# 狩猎庫蚊生理年龄与班氏絲虫传播关系\*

## 何桂銘 容 瓘

(中山医学院寄生虫学教研组)

国内外絲虫病之研究資料甚多,其中涉及蚊方面之內容亦屡見不鮮,最近 Laurence (1963)更以阳性蚊体內所含各期絲虫幼虫比例推算出蚊之每日死亡率。唯自蚊之生理年龄来分析其与传病关系者甚少,仅見于 Samarawickrema (1962)及 Wharton (1959)。自苏联 Детинова 以卵巢小管膨大測定按蚊之生理年龄后,疟疾之有关流行病学研究得以深入发展,为防治該病提出許多有价值的資料。其后,学者們将此法应用于其他蚊种,亦証明以卵巢小管膨大数測定蚊子年龄在曼蚊 (Bertram & Samarawickrema, 1958)、庫蚊及伊蚊(Colless, 1958)均有重要意义。为此,我們进行了庫蚊生理年龄与其体內絲虫感染情况的研究,希借此对深入研究絲虫病流行病学有进一步的了解。我們的工作共分二部分,一部分是自实驗室观察狩猎庫蚊能否自卵巢小管膨大确定蚊子年龄,第二部分是流行区蚊体絲虫感染情况調查。調查是在1963年5—6月在广东省阳江县平崗墟进行的。本文为根据实驗室材料及野外調查結果整理成的报告。

#### 方 法

- (一) 实驗室观察 自野外孳生地取狩猎庫蚊蛹在实驗室羽化出成蚊。 将成蚊分批入籠,飼养于室温或相当于室温之温箱內,以小白鼠为食餌使之吸血。取出飽吸血液之蚊,喂葡萄糖水待血液消化。将血液消化完毕(謝氏 VI—VII 期) 之蚊逐只放入含有少量 地塘水之指管中,盖以紗布使产卵;产卵后按批数及产卵次数分放入籠,照上法継續进行第二、三、四次之吸血产卵。取部分产卵后 12 小时以上之蚊(未再吸血者)解剖,分离出卵巢,将卵巢小管逐条拉出,观察卵巢小管膨大数,以确定与雌蚊在实验室产卵次数之符合率。从实驗室观察,我們最少观察 15 条,最多观察 61 条卵巢小管。但是,卵巢小管的数目均在 30 以內即出現合乎产卵次数之卵巢小管膨大数目。 第四次产卵后之蚊不再使吸血,全部解剖观察。观察法为将卵巢放于一滴含有少量 1% 中性紅之生理盐水中解剖,如此卵巢着紅色,卵巢小管內之顆粒着色尤深且反光,确定膨大数較迅速及准确。
- (二) 野外观察 蚊之来源为清早不加选择地在墟鎭逐家人房捕捉的狩猎庫蚊。 携回实驗室經鉴定后,于即日上、下午解剖观察。解剖之对象为全部吸血后不久,胃部仍具解血,卵巢未見明显发育(謝氏 II—III 期)之蚊。解剖时将蚊編号,逐只蚊分离出卵巢,加中性紅生理盐水解剖观察卵巢小管膨大数,借此确定每蚊的生理年龄;并将各蚊之胃血,头、腹及胸肌分别置于玻片上,在生理盐水中撕碎,加盖玻片检查。其后逐蚊按編号登記結果(包括蚊之生理年龄及絲虫幼虫感染情况)。

#### 結果及討論

(一) 实驗室观察 解剖实驗室飼养之不同生理年龄狩猎庫蚊产卵后情况,結果如表 1。自表 1 可見,解剖之蚊其卵巢小管膨大数目之增加与蚊之生理年龄相符,即此情况与按蚊相同(Детинова, 1949)——每产卵一次,产卵后其卵巢小管即具一粒膨大,因此,不同年龄之蚊其卵巢小管膨大数目能代表产卵次数,故以卵巢小管膨大数目确定蚊之生理年龄,經实驗証明亦适用于狩猎庫蚊。但随着蚊子生理年龄之增加,符合該产卵次数之卵巢小管膨大数目相应减少。例如第一次产卵者,其卵巢小管多具 1 粒膨大;而至第四次产卵后具 4 粒膨大者虽有但不多,有些解剖 29 个卵巢小管,其中有 7 个符合产卵次数,但也有解剖 32 个小管,仅有 1 个符合(32 个为观察数,但发现卵巢小管有 4 粒膨大者为在 30 个之前)。此可能为每次吸血后卵巢滤泡发育数量不同,Детинова(1955)曾在羽斑按蚊观察到每次吸血后并非全部滤泡进行发育,不发育的滤泡在产卵后,其小管不具膨大。生理年龄較高之蚊,滤泡发育数量較少,产卵量亦少。因此产卵次数較多之蚊,其卵巢小管膨大数目之变化較大。此外,膨大数目亦因蚊种及每只蚊之个体差异而有不同。因此,解剖卵巢小管数必須較按蚊适当增加以能确切說明蚊龄,在狩猎庫蚊建議以 30 个为观察每蚊之最低标准。

724	卵	解剖卵巢		卵	巢 小	管 膨	大数		卵管膨大	
,	711	小管数(解		が来 7. 目 ル 八 数					符合率	结 果
女	数	剖蚊数)	0	1	2	3	4	其他	(%)	
	女	1136(35)	92	1044					91.90	全部蚊符合生理年龄
· =	次	226(6)	6	159	61				<b>2</b> 6.99	同上
三	次	49(2)	1	22	21	5			10.20	同 上
四	夊	548(18)	1	180	200	108	46	13△	8.39	同上

表 1 实驗室观察狩猎庫蚊卵巢小管膨大与生理年龄关系

在观察过程中,我們曾試用 Colless (1958) 以显微鏡在盖玻片下直接观察狩猎庫蚊 卵巢小管的膨大,我們认为这种方法区分新羽化与已产卵雌蚊是可以的,但进一步确定已产卵雌蚊的产卵次数則不及解剖观察卵巢小管准确。

实驗室飼养狩猎庫蚊每个生殖营养环所需时間:各批观察結果与温度之升降有很大差异,根据我們实驗室观察初步結果,如果温度在 25℃ 左右时,半数以上的蚊經 4 日血液消化完毕产卵。一般产卵后至再次找到吸血对象时需經一定时間,故每个生殖营养环在 25℃ 左右时約需 4.5—5 日。

以实驗室每个生殖营养环所需时間联系現場材料,按当时气温为 21.1—33.3℃(五月)及 22.6—34.3℃(六月)分析,一般吸血均在夜間进行,灰日被捕解剖,如此計算其新羽化第一次吸血后的寿命,則第一次吸血后狩猎庫蚊在自然界生存之日期为一日,第二次吸血后为 5.5—6 日,第三次吸血則为 11—12 日,如果在外界昼夜温度相差較大,寻找产卵場所及吸血对象較困难时,則寿命当更較此数字为长。

(二) **野外蚊虫观察** 解剖狩猎庫蚊 1,121 只,其中阳性 217 只(阳性率为 19.36%)。 所感染之各期幼虫以微絲蚴期为最多,腊腸期、感染前期及感染期則依次递減,且此分布

<sup>△</sup> 此 13 只为产卵后不久的卵巢小管

与蚊之生理年龄密切相关。自表 2 可見,新羽化第一次吸血之灰日几全部阳性蚊仅見微絲蚴,其中仅一只含有刚形成的腊腸期,該只蚊为清早捕捉,午后解剖者,此情况符合微絲蚴入蚊体后发育至腊腸期所需时間。在第二次吸血后,即距其初灰吸血 5.5—6 日后,此时初次吸入之微絲蚴已发育至腊腸期,甚至蜕皮后形成感染前期(此可能为寻找产卵場所或再次吸血对象过程之时間延长,致体内絲虫繼續发育),而第二次吸血时吸入之絲虫幼虫則仍处于微絲蚴期,因此在第二次吸血后依絲虫幼虫进入蚊体之不同时間,我們在不同蚊体可見有微絲蚴、腊腸期或感染前期三种时期之幼虫,且自第二次吸血后,可見有混合感染不同期幼虫。而第三次吸血时除該灰吸入微絲蚴外,由于此时至少距离初次吸血 11 —12 日,前二次所吸入之絲虫幼虫則継續发育,因此在蚊体所見之絲虫幼虫除第二次所見之三种时期外,尚可在体腔甚至口吻見到甚活跃之感染期幼虫。此次現場观察材料以生理年龄計算蚊体絲虫幼虫发育时間,无論是微絲蚴、腊腸期、感染前期或感染期均与Kobayashi(1940)实驗室观察班氏絲虫幼虫在狩猎庫蚊体内之变化相符。但 Lie(1960)調查結果,有些蚊虫其卵巢小管尚未見有膨大,体内即有感染期幼虫,我們认为很难想象这种情况有存在的可能。

根据我們的材料,可以看出随着蚊生理年龄的增加,蚊虫的絲虫阳性率亦相应上升(表 2),而且此阳性率的上升也是有規律的。 如:微絲蚴之感染率在各个生理年龄第一至第四次吸血后之蚊体中分別为 13.66%、12.15%、15.62% 及 23.33%,根据統計分析  $\mathcal{X}^2=5.624$ ,P在 0.20 与 0.10 之間,四者差异不显著。即每蚊不論年龄,当其吸血时均有同等之机会从病人血液吸到微絲蚴。由于阳性蚊所含微絲蚴之比例数相近,我們継之就发現到第二次至第四次吸血后,各年龄的感染 腊腸期百分比分別为 7.29%、6.70% 及 8.33%, $\mathcal{X}^2=0.191$ ,P在 0.90 与 0.95 之間,差异不显著。同样自第三次及第四次吸血后,蚊体内含感染前期的百分比各为 6.70% 及 10.0%, $\mathcal{X}^2=0.7566$ ,P在 0.50 与 0.30 之間,差异不显著,而含感染期者則分別为 2.33% 及 3.33%, $\mathcal{X}^2=0.236$ ,P在 0.70 及 0.50 之間,差异亦不显著,而含感染期者則分别为 2.33% 及 3.33%, $\mathcal{X}^2=0.236$ ,P在 0.70 及 0.50 之間,差异亦不显著,說明皆具相近之数量。因此在第一次吸血后阳性率较低,此阳性率几乎即是微絲蚴之阳性率;第二次吸血后阳性率增加,所增之百分比主要由于腊腸期及少量感染前期,而第三次吸血后,則又比第二次吸血增加了感染前期及感染期。第四次以后之吸血,含幼虫之百分比仍在上升,此时我們可以发現由于蚊虫年龄之增加,吸血机会增加,感染机会亦多,因此蚊虫年龄越长,重复感染者亦多。

生 理 年 龄	解剖	阳性数	含各期絲虫蚴蚊数 (阳性%)				
生 珪 平 瞬	蚊数	(阳性%)	微絲蚴	腊肠期	感染前期	感染期	重复感染
未产过卵(初次吸血)	549	76(13.84)	75(13.66)	1(0.18)			
第一个生殖营养环完成(二次吸血)	288	57(19.79)	35(12.15)	21(7.29)	3(1.04)		2(0.69)
第二个生殖营养环完成(三女吸血)	224	60(26.79)	35(15.62)	15(6.70)	15(6.70)	5(2.23)	8(3.57)
*第三个生殖营养环完成(四次吸血)	60	24(40.00)	14(23.33)	5(8.33)	6(10.0)	2(3.33)	3(5.00)
	1121	217(19.36)	159(14.18)	42(3.75)	24(2.14)	7(0.62)	13(1.07)

表 2 阳江县野外采集的狩猎庫蚊絲虫感染情况

<sup>\*</sup> 包括第四、五个生殖营养环者 10 只

狩猎庫蚊感染班氏絲虫幼虫后,对蚊虫生存率的影响見表3。 根据我們的材料分析, 以阳性雌蚊每經过一个生殖营养环的生存率計算,并以阴性蚊每經相应的一个生殖营养 环的生存率为对照。阴性对照蚊为表 2 中每个龄期之解剖蚊数減去阳性蚊数。以此計算 出在第一、二、三、四次吸血时阴性蚊数各为 473、231、164 及 30。以前后連接二次吸血 蛟数求得百分比,即为每經过一个生殖营养环的生存率。如第二次吸血蚊数 231 与第一 次吸血蚊数 473 之比, 所得之 48.84% 即为經过第一个生殖营养环阴性对照蚊之生存率。 以此类推其他,并按同理求得阳性蚊之生存率。唯計算阳性蚊生存率过程,为了解絲虫各 幼虫期对阳性蚊各生理年龄之影响,我們仅以由于第一次吸血时吸入微絲蚴之蚊,根据幼 虫在蚊体之发育过程来推算蚊經各个生殖营养环之生存率,故在第二次及以后各次吸血 时而被感染者以及重复感染之蚊均不列入計算。按此要求,我們根据表 2 推算出未产过 卵者,即第一次吸血时吸入絲虫幼虫者共76 蚊。第二次吸血之蚊(該蚊已完成第一个生 殖营养环)在第一次吸血吸入之絲虫幼虫已发育至腊腸期, 甚至感染前期, 故該次吸血之 阳性蚊应仅包括含此二期之蚊(見表 2,前者为 21 只,后者为 3 只,即 24 只),唯其中有一 只蚊含腊腸期及感染前期二期幼虫,故实际蚊数应减去此只,即23只。第三次吸血时,蚊 体內之絲虫幼虫継續发育至感染前期,甚至感染期,按上法推算,含感染前期之較为15 只,含感染期者为5只,二者共計20只,此数应減去其中同时感染此二期者2只,故实际 数应为 18 只。此数即为第一次吸血时之阳性蚊,經过二个生殖营养环后生存之蚊数。継 之計算出第四次吸血时阳性蚊体内之絲虫幼虫全部发育至感染期,故阳性蚊数即为表中 之2只。以所得之每次吸血时之阳性蚊数,按照阴性对照蚊每个生殖营养环生存率之計 算方法,即得出每个生殖营养环之阳性蚊生存率。

生理年龄	阳性蚊每个生殖营养环 生存率	阴性对照蚊每个生殖 营养环生存率	率差异显著性
新羽化至第一个生殖营养环完成	$\frac{23}{76} = 30.26\%$	$\frac{231}{473} = 48.84\%$	3.73 (差异显著)
第二个生殖营养环	$\frac{18}{23} = 78.26\%$	$\frac{164}{231} = 71.00\%$	1.06 (差异不显著)
第三个生殖营养环	$\frac{2}{18} = 11.11\%$	$\frac{30}{164} = 18.29\%$	0.95 (差异不显著)

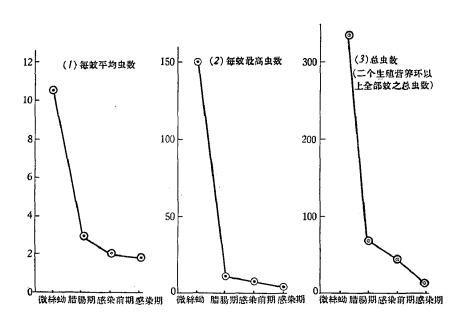
表 3 狩猎庫蚊生存率与絲虫感染及蚊龄关系

調查的材料說明从新羽化經第一次吸血至第一次产卵后,阳性蚊經过第一个生殖营养环,当时体內之絲虫幼虫为微絲蚴发育至腊腸期,蚊之生存率为30.26%,而阴性对照蚊为48.84%,經統計学分析,两者差异显著,說明我們观察的地区,絲虫幼虫在这个发育阶段对被感染的昆虫寄主的生存率是有影响的。但是經过第二个生殖营养环——在此期間幼虫从腊腸期发育至感染前期及感染期(无微絲蚴重复感染者)——阳性蚊之生存率与对照租差异不显著(二者各为78.26%及71.00%),說明对蚊之生存率无显著影响。第三个生殖营养环后,体內全部幼虫发育至感染期(无微絲蚴、腊腸期及感染前期重复感染者),在此过程阳性蚊之生存率与对照租比較,差异亦不显著。自此結果看,我們认为班氏絲虫幼虫对蚊生存率的影响主要在于微絲蚴初入蚊之时,因此吸入微絲蚴后,蚊之死亡率增高,其后影响明显減少,甚至生存率与阴性蚊无明显差别。此情况与 Jordan 等(1962)之实验

室观察相似,亦符合埃及伊蚊(Kershaw et al. 1953)及其他蚊虫受犬絲虫影响結果。在埃及伊蚊受感染后,前5日(微絲蚴至馬氏管过程)及感染期幼虫形成后死亡率高,而中間期間死亡率低。此外,蚊虫吸入其体内微絲蚴的数目亦直接影响于蚊之生存。

自每蚊感染微絲蚴期与其他各期数量比較,分析蚊对絲虫幼虫发育之影响,我們可 看到:自阳性蚊每蚊平均虫数比較,具微絲蚴者平均每蚊含 10.54 条,携带腊腸期者仅为 2.95条,携带感染前期及感染期者更少(各为 2.08 及 1.86条)。另自感染蚊体各期之最高 数量比較,含微絲蚴最多之一蚊有 151 条,而含腊腸期者最多只有 12 条,携带感染前期及 感染期之蚊,虫之最高量各为8条及5条(图(1)、(2))。此外,我們还选择了經过二个生 殖营养环以上的全部阳性蚊(因为此类蚊体內可具备各期的絲虫幼虫),計算其体內絲虫 数目之变化。結果,含微絲蚴总数为 337 条,腊腸期为 68 条,感染前期为 45 条,感染期为 13条(参見图(3))。自以上各情况看来, 微絲蚴入蚊后, 在发育过程数量大減, 虽然病人血 中微絲蚴数达一定量时会致蚊死亡,这可能是由于微絲蚴入蚊体后随粪便排之于体外或 被消灭。另外从自然界狩猎庫蚊之生理年龄看,随着蚊龄之增长,蚊数相应递减,因此,蚊 之自然死亡过程,部分蚊体内絲虫幼虫亦必然随之消灭。自蚊体最高虫数看,携带微絲蚴 者一般数量較多, 唯发育至腊腸期时則最多只达 12 条, 且一般只有 1-4 条, 継續发育过 程,自每蚊平均数来看,变化似較平稳,唯仍逐漸減少。因此一旦微絲蚴入蚊体后,必有可 能因蚊体之作用而部分死亡,此亦以初入蚊之短时内变化最大。待腊腸期形成后則似較 适应,而彼此間之影响均較少。自图(3)我們还可以联系到幼虫之数量变化,且說明最后 形成感染期之机会甚少。 按材料分析,感染期幼虫与侵入蚊体之微絲蚴数目之比 例为 13:337(图(3)資料)即 3.86%。虽然,这比例与当地病人血液含微絲蚴量、調查的季节及 其他因素有关,但无可否认,微絲蚴入蚊体后,发育过程遇障碍甚多,极大量幼虫被消灭, 形成感染期者只为极小部分。

潛在性传絲虫蚁与生理年龄的关系 自表 2 看来,解剖 1,121 只蚊中, 携带感染期幼



虫者只为 0.62 %,但均分布于生理年龄較高之蚊,即在第一、二个生殖营养环时叮咬人,由于蚊体該时无感染期幼虫,故不使人受感染;直至第三次吸血时才有可能将体内发育之感染期幼虫感染于健康者。若蚊子年龄較大时才吸入微絲蚴,則传播之时期更迟。因此,我們可以肯定传播絲虫在当时气候条件下具流行病学意义之狩猎庫蚊为第三个生殖营养环开始。我們解剖 1,121 只蚊,属此类者 284 只,即潛在性传絲虫蚊为 25.34 %。

狩猎庫蚊孳生地广泛,在我省广大农村适合狩猎庫蚊孳生之环境甚多。因此該蚊在全年虽有季节高峯,但各月均有一定数量,且此蚊与人关系密切,极嗜人血(蔡尚达等,1957),栖息人房。故只要有病人之环境,絲虫病就会通过狩猎庫蚊之叮刺活动而散播。在阳江携带感染期絲虫蚊占 0.62%,即每受叮咬百余次即有机会可能受感染,而潛在性传絲虫蚊达 25.34%,說明受传染之威胁相当大。但自另一角度看,即感染性蚊之寿命及体内含感染期幼虫之数量(一般只有 1—2 条),两者能否保証蚊体内之感染期幼虫均能通过叮咬过程传播于人仍为一問題。

#### 小 結

- 1. 自实驗室飼养狩猎庫蚊的材料, 証明該蚊卵巢小管的膨大数与产卵次数相符。随 着蚊虫生理年龄的增加,卵巢小管膨大数的符合率則減少。根据实驗观察結果,每只蚊解 剖观察卵巢小管最少不应低于 30 个。
- 2. 自絲虫病流行地区人房捕捉狩猎庫蚊, 观察蚊之生理年龄与体內絲虫幼虫发育关系, 結果微絲蚴至其后各期幼虫之发育时間与前人之实驗室观察情况相似。
- 3. 在阳江县取狩猎庫蚊 1,121 只解剖,阳性者 217 只,阳性率为 19.36%。 阳性率在各个生理年龄之蚊非均匀分布。但由于吸血次数增加,得感染之机会亦因之增加,因此感染率是随蚊子年龄增大而上升的,第一次吸血者感染率为 13.84%,第二次吸血者为 19.79%,第三次吸血者为 26.79%,第四至六次者为 40.0%。携带成熟感染期幼虫之机会也因此而有不同,直至第三次吸血时才有可能将所携带之感染期絲虫幼虫传播于人。
- 4. 分析絲虫幼虫与蚊二者之相互关系。初步认为在感染初期无論是絲虫对蚊或蚊对 絲虫影响均較大,經过一个生殖营养环后,蚊之生存率与阴性蚊无大差异,每蚊体內之虫 数亦相对稳定。

#### **参 考 文** 献

蔡尚达等 1957 广州市流行性乙型脑炎媒介的研究。微生物学报 5:369。

Bertram, D. S. & W. A. Samarawickrema 1958 Age determination for individual Mansonoides mosquitoes. Nature 182:444.

Colless, D. H. 1958 Recognition of individual nulliparous and parous mosquitoes. (Correspondence) Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 52:187.

Jordan, P. & K. D. Goatly 1962 Bancroftian filariasis in Tanganyika: A quantitative study of the uptake, fate and development of microfilaria of Wuchereria bancrofti in Culex fatigans. Ann. Trop. Med. Parasit. 56:173.

Kershaw, W. E. et al. 1953 Studies on the intake of microfilariae by their insect vectors, their survival and their effect on the survival of their vectors. I. Dirofilaria immitis and Aedes aegypti. Ann. Trop. Med. Parasit. 47:207.

Kobayashi, H. 1940 On the development of the Microfilaria bancrofti in the body of the mosquito (Culexifatigans). Acta Jap. Med. Trop. 2:63.

- Laurence, B. R. 1963 Natural mortality in two filarial vectors. Bull. Wld. Hlth. Org. 28:229.
- Lie, K. J. et al. 1960 Wuchereria bancrofti infection in Djakarta, Indonesia. A study of factors influencing its transmission. *Ind. Jour. Malar.* 14:339.
- Samarawickrema, W. A. 1962 Follicular relics in wild-caught Culex fatigans Wiedemann in Ceylon. Bull. Wld. Hlth. Org. 27:637.
- Wharton, R. H. 1959 Age determination in Mansonoides mosquitoes. Nature. 184:830.
- Детинова, Т. С. 1949 Физиологические изменения яичников у самок Anopheles maculipennis. Мед. Паразит XVIII:410.
- Детинова, Т. С. 1955 Плодовигостб обыкновенного малярийного камара *Anopheles maculipennis*. *Med. Паразит* XXIV:6.

### THE RELATIONSHIP BETWEEN THE PHYSIOLOGICAL AGE OF CULEX FATIGANS AND ITS TRANSMISSION OF WUCHERERIA BANCROFTI

Ho KWEI-MING AND JUNG KUAN (Chung Shan Medical College)

This paper deals with the physiological age of laboratory-reared *Culex fatigans* as determined by the change of ovarioles and its bearing on the transmission of *Wuchereria* bancrofti in the endemic area.

The changes of ovarioles of *C. fatigans* after ovulations were observed and recorded. The results show that there was no dilatation (follicular relic) of the ovariole in the nulliparous, and after each ovulation there appeared one dilatation in the majority of ovarioles. So the maximal number of follicular dilatations agreed with the physiological age of the mosquitoes. However, there shows the tendency that the older the physiological age the lower the coincident rate of the follicular dilatations with the former. Judging from the analysis on the data so far obtained, it is suggested that in each dissected mosquito not less than 30 ovarioles should be examined to ensure reliable results.

In the endemic area of bancroftian filariasis, newly engorged C. fatigans were caught from human habitations in the morning, and dissected on the same day. A total of 1,121 females were dissected, of these 217 or 19.36% were found infected. The infective rate of the nulliparous was 13.84%; of the parous with one dilatation, 19.79%; with two dilatations, 26.79%; with three to five dilatations, 40.0%. Obviously, the infective rate rose as the physiological age increased. As early as after the third engorgement the infective bancroftian larvae were already formed. It seems that mosquitoes may be potentially dangerous after the second gonotrophic cycle, and that biting prior to this is probably epidemiologically insignificant.

An analysis of the host-parasite relationship between the development of the W. bancrofti larvae and the gonotrophic physiology of the mosquito was made and discussed.